




Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
 EM|consulte
www.em-consulte.com



TOXICOLOGIE

Effets physiopathologiques des mélanges de pesticides[☆]

Physiological impact of pesticides mixtures

Laurence Gamet-Payraastre^{a,*,b}

^a INRA, Toxalim (Research Centre in Food Toxicology), 180, chemin de Tournefeuille, 31027 Toulouse, France

^b INP, UPS, Toxalim, universités de Toulouse, 31027 Toulouse, France

Reçu le 25 janvier 2011 ; accepté le 3 février 2011

MOTS CLÉS

Pesticides ;
Exposition
professionnelle ;
Exposition
alimentaire ;
Mélanges ;
Consommateur ;
Santé

Résumé Les pesticides sont considérés comme des facteurs de risques pour la santé. Les études épidémiologiques montrent souvent une corrélation positive entre l'exposition professionnelle et le risque d'apparition de pathologies chez l'utilisateur ou sa descendance. L'exposition de la population générale est différente de l'exposition des utilisateurs. En effet, le consommateur est exposé via l'alimentation à des mélanges de pesticides à faibles doses et à long terme. Aujourd'hui la question est posée de savoir quel peut être l'impact d'une telle exposition sur la santé des consommateurs ou de leur descendance. L'hypothèse selon laquelle les composés présents aux doses correspondant à leur *no observable adverse effect level* (NOAEL) et qui agissent via des mécanismes d'action différents, ne peuvent pas exercer d'effet même lorsqu'ils étaient présents en mélange, est aujourd'hui réfutée. Des études sur les perturbateurs endocriniens ou sur les mélanges de pesticides en général, telles que nous les développons, montrent que l'effet des mélanges ne peut pas être prédictible de l'effet des composés pris individuellement. Les effets des mélanges peuvent être cumulatifs, antagonistes, additifs ou synergiques selon la fonction étudiée ou le paramètre de la fonction physiologique étudiée. Ainsi, s'il est difficile d'évaluer expérimentalement la totalité des combinaisons possibles auxquelles le consommateur peut être exposé, il est indispensable d'évaluer les effets de mélanges représentatifs pour une meilleure appréhension de l'évaluation des risques du consommateur.

© 2011 Société française de nutrition. Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

[☆] Texte issu d'une conférence de l'auteur aux Journées francophones de nutrition, Lille, décembre 2010.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : laurence.payraastre@toulouse.inra.fr.

KEYWORDS

Pesticides;
Occupational
Exposure;
Dietary exposure;
Mixtures;
Consumer;
Health

Summary Pesticides are considered as risk factors for human health. Indeed, epidemiological studies often show a positive correlation between occupational exposure and the risk of developing diseases for users and/or their descendants. The exposure of the general population is different from the exposure of professionals. Indeed, the consumer is exposed through the diet to mixtures of pesticides at low doses and during a long-term period. Now the question raised is what may be the impact of such an exposure on the health of consumers or their descendants. The hypothesis that compounds at doses corresponding to their No Observable Adverse Effect Level (NOAEL), which act via different mechanisms of action, could not exert an effect even when they are present in combination is today rebutted. Studies on endocrine disruptors or on pesticides mixture in general, as we develop in our laboratory, show that the effects of mixtures cannot be predicted from the effect of the single molecule. The effects of mixtures can be cumulative, antagonistic, additive or synergistic depending on the function or the parameter of the studied physiological function. Even if it is difficult to evaluate experimentally all possible combinations to which consumers may be exposed, it is essential to evaluate the effects of representative mixtures for a better understanding of the risk assessment of consumers.
© 2011 Société française de nutrition. Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Introduction

L'exposition aux pesticides est un problème majeur de santé publique longtemps ignoré, qui concerne l'ensemble de la population : les professionnels, et notamment les agriculteurs ; les particuliers qui utilisent ces composés à la maison ou dans le jardin ainsi que le consommateur exposé via l'alimentation. Un rapport récent de l'Efsa montre en effet que 49,5% des fruits et légumes dans la communauté européenne contiennent des pesticides [1].

L'exposition professionnelle aux pesticides : un risque pour la santé des utilisateurs et de leur descendants

Les pesticides sont considérés comme des facteurs de risques pour la santé et les études épidémiologiques montrent une corrélation positive entre l'exposition professionnelle et le risque d'apparition de pathologies. Dans une méta-analyse de 13 études épidémiologiques récentes concernant l'incidence des cancers hématopoïétiques, nous avons montré que l'exposition professionnelle aux pesticides est associée à une augmentation de 35% du risque de développer des lymphomes non hodgkinien (NHL) et tend à accroître le risque de développer des leucémies et des myélomes multiples [2].

L'exposition des utilisateurs de pesticides pourrait aussi avoir des conséquences sur la santé de leurs descendants. En effet, des études épidémiologiques montrent souvent que l'utilisation professionnelle des pesticides par le père ou l'utilisation des pesticides ménagers par la mère est associée à une augmentation du risque de développer certaines pathologies chez l'enfant (cancer, perturbation de l'immunité, troubles du comportement). En effet, dans une étude synthétisant les données de 40 études épidémiologiques les plus récentes (résultats personnels en cours de publication), nous montrons que l'exposition prénatale du père ou de la mère aux pesticides via l'utilisation professionnelle ou ménagère, entraîne chez l'enfant une augmentation significative du risque de développer des cancers du cerveau, des leucémies ou des lymphomes. Par ailleurs, d'autres auteurs ont montré des corrélations

positives entre les taux de métabolites de pesticides dans les fluides biologiques (méconium, urine) de la mère ou de l'enfant et l'apparition de troubles de la santé chez l'enfant [3,4]. La période prénatale peut être considérée comme une fenêtre critique d'exposition en termes de facteurs de risques. Il est admis par une grande majorité de scientifiques que les anomalies génétiques à l'origine de certaines pathologies comme le cancer, se produisent in utero. Or les facteurs majeurs connus comme étant à l'origine des cancers tels que virus, génétiques, radiations... ne suffisent pas à expliquer l'ensemble de ces pathologies ; l'hypothèse est alors émise que les facteurs environnementaux, notamment les pesticides, pourraient être à l'origine de ces perturbations génétiques.

Il est important de ne pas confondre le risque encouru par les utilisateurs, professionnels ou non, de pesticides avec celui encouru par les consommateurs.

L'exposition des consommateurs : mélanges de pesticides à faibles doses et à long terme

L'exposition des consommateurs est différente de l'exposition des utilisateurs. En effet, le consommateur est exposé via l'alimentation à des mélanges de pesticides à faibles doses et à long terme. Il est difficile de mettre en évidence une relation de causalité entre pesticides et santé chez le consommateur pour plusieurs raisons, liées essentiellement :

- à la multiplicité des composés : les consommateurs sont exposés à une combinaison infinie de molécules, il est difficile d'identifier les produits incriminés, d'évaluer les interactions possibles et leurs effets cumulatifs tout au long de l'année ;
- à la susceptibilité individuelle [5,6] ainsi qu'à la fréquence d'exposition du consommateur qui peut varier tout au long de l'année ;
- aux pathologies, qui ont pour la plupart une origine multifactorielle et dont le degré de contribution de l'environnement peut varier de 2 à 80%.

Ainsi, il est difficile d'évaluer expérimentalement la totalité des combinaisons possibles. En contrepartie, il est indispensable d'évaluer les effets de mélanges représentatifs, établis sur la bases réelles de mesures de pesticide dans l'alimentation et d'enquêtes alimentaires établissant la consommation moyenne de la population. Dans la littérature, différents mélanges de pesticides, testés *in vivo* ou *in vitro*, ont été choisis sur une base de critères liés soit :

- à l'appartenance des composés à une famille chimique de molécules ;
- soit à des données d'exposition issues :
 - de modélisation,
 - d'analyse de composés dans les tissus les fluides biologiques, dans les aliments ou l'eau,
 - de données d'utilisation agricole ;
- soit à des cibles cellulaires ou physiologiques communes.

L'effet sur la santé des mélanges de pesticides absorbés à doses réputées sans effet a été encore peu étudiée et reste difficile à prévoir.

Les données récentes sur l'effet des mélanges

Il a été admis pendant longtemps que les composés présents aux doses correspondant à leur *no observable adverse effect level* (NOAEL) et, qui agissent via des mécanismes d'action différents, ne pouvaient pas exercer d'effet même lorsqu'ils étaient présents en mélange. Cependant, des revues récentes d'études expérimentales relatives aux perturbateurs endocriniens et à la fonction de reproduction, Kortenkamp et Rider [7,8] montrent que les mélanges : (i) peuvent exercer des effets marqueurs de perturbation endocrinienne à des doses inférieures à leur NOAEL, que leur mécanisme d'action soit similaire ou différent ; (ii) peuvent exercer des effets cumulatifs et/ou dépendant de la dose lorsque les composés du mélange ont pour cible un même tissu. Lorsque l'on élargit la littérature, on s'aperçoit qu'il est difficile d'établir une conclusion définitive et une exposition à des mélanges induit des effets hétérogènes suivant l'étude. En effet, certains mélanges n'exercent pas d'effet alors que les molécules seules exercent un effet ; l'effet du mélange peut être différent au sein d'une même famille chimique de composés et les effets des mélanges peuvent être cumulatifs, antagonistes, additifs ou synergiques selon la fonction étudiée ou le paramètre de la fonction physiologique étudiée (quelques exemples [9–14]). Ainsi aujourd'hui on ne peut pas établir de conclusions définitives généralisables à l'ensemble des mélanges.

Approches expérimentales de l'étude de l'impact des mélanges de pesticides à faibles doses

Pour tenter apporter des éléments de réponse à la question de l'impact d'une exposition à des mélanges de pesticides apportés via l'alimentation, nous avons étudié *in vitro* et *in vivo* l'impact de mélange de pesticides chez l'adulte et sur sa descendance. Les pesticides choisis sont ceux présents sur les fruits et légumes les plus consommés en France et

pour lesquels la littérature rapporte des effets sur des cibles cellulaires et physiologiques communes.

Dans la première étude publiée en 2010 [15], nous avons testé chez la souris adulte, l'impact d'un mélange de six pesticides (alachlor, diazinon, endosulfan, maneb, mancozeb, captan) sur l'hématopoïèse. Ce mélange a été administré par voie orale à une faible dose calculée à partir de la dose journalière admissible (DJA) définie pour l'homme et adaptée au poids des souris. L'administration était effectuée par gavage tous les deux jours pendant quatre semaines à des souris âgées de 11 semaines. Aucune différence dans l'évolution du poids corporel n'a été notée entre les groupes d'animaux traités et non traités. En revanche, on constate après quatre semaines de traitement une augmentation significative du poids de la rate chez les femelles et une diminution du poids du foie chez les mâles. Cette dernière observation nous a conduit à évaluer l'incidence d'une telle exposition sur l'homéostasie métabolique hépatique par une approche globale sans *a priori*, la métabonomique. Nos résultats montrent clairement une empreinte métabolique spécifique de l'exposition et présentant un dimorphisme sexuel. L'identification des métabolites discriminants entre les différents groupes exposés ou non aux pesticides, montre une activation du métabolisme du glycogène chez les mâles et une activation de la néoglucogenèse chez les femelles ainsi qu'une perturbation du métabolisme lié au stress oxydant. L'impact de l'exposition au mélange de six pesticides sur l'hématopoïèse a été évalué sur les capacités de clonogénicité et de différenciation des cellules souches de la moelle osseuse. Les colonies *burst-forming unit-erythrocyte* (BFU-E), *colony forming unit macrophage* (CFU-M) et *colony forming unit granulocyte-macrophage* (CFU-GM), correspondant aux progéniteurs engagés dans les différentes voies de différenciation hématopoïétiques, présentent une morphologie différente lorsque la moelle osseuse est issue de souris exposées comparativement aux contrôles. De plus, nos résultats montrent que l'exposition des femelles au mélange de six pesticides est associée à une diminution du nombre de colonies CFU-GM et une réorientation de la différenciation vers la lignée granulocytaire. À l'opposé, chez les mâles, on observe une augmentation du nombre de colonies CFU-M et une réorientation de la différenciation vers la lignée macrographique après exposition au mélange de pesticides. De plus, les modifications fonctionnelles de l'hématopoïèse sont corrélées avec des perturbations de voies de signalisation impliquées dans le contrôle de la prolifération et la différenciation des progéniteurs hématopoïétiques (i.e. PKB/AKT, GSK3, cyclin D, cmyc et pyk2).

Chez la souris, l'exposition à des pesticides alimentaires à des doses correspondant à la DJA humaine a un effet sur la descendance.

Dans un deuxième temps, nous avons évalué l'effet de mélange de pesticide sur la santé dans la descendance. Dans cette étude nous avons tenté : (i) de mieux mimer l'exposition du consommateur en incorporant les pesticides dans les aliments, (ii) d'étudier les ou la fenêtre critique d'exposition en examinant l'impact d'une exposition pré-et/ou postnatale et, (iii) de comparer l'effet du mélange à celui des pesticides seuls. Les paramètres étudiés dans la descendance concernent l'hématopoïèse, le système nerveux central, l'immunité et l'homéostasie métabolique. Ce travail a été réalisé en collaboration avec l'UR 66 Inra Tou-

louse (I. Oswald, L. Gusilack et J. Lafitte), l'unité Inserm 563 (C. Demur), neuroservice (B. Buisson et EM Steidl), l'Inra Sophia Antipolis (R. Rahmani, G. Desousa) et la plateforme Axiom Inra Toulouse (C. Canlet). Ces travaux sont supportés par l'Agence nationale de la recherche (ANR) et l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail (Anses). Dans cette étude, les mères sont nourries pendant la phase de gestation et de lactation avec des aliments contenant les pesticides seuls (atrazine, chlorpyrifos, endosulfan) ou en mélange aux doses calculées à partir de la DJA (telle qu'elle a été définie chez l'homme). Les paramètres sont étudiés dans la descendance, chez les animaux au sevrage et chez ceux qui ont été nourris avec ces aliments pendant une période additionnelle de 11 semaines. D'une façon générale, nos résultats montrent que l'exposition alimentaire des mères à des pesticides seuls, aux doses auxquelles ils sont supposés ne pas exercer d'effet délétère, entraîne chez les F1 dès le sevrage, des perturbations de l'hématopoïèse centrale associées à une empreinte métabolique plasmatique spécifique et différentielle selon le sexe de l'animal. L'exposition des souriceaux à une période additionnelle de 11 semaines aux aliments reçus par leurs mères respectives, entraîne des perturbations hématopoïétiques plus marquées, associées à une signature biologique dans le plasma différente de celle des souriceaux. Par ailleurs, nos résultats montrent que les conséquences de l'exposition au mélange de pesticides ne sont pas prédictibles de l'effet des composés pris individuellement que ce soit au niveau hématopoïétique, au niveau de l'immunité, du système nerveux central ou de l'empreinte métabolique. Nos résultats soulignent donc l'importance de l'évaluation de l'effet des mélanges dans les procédés d'évaluation des risques lors de la demande d'autorisation de mise sur le marché. Nos études montrent aussi que la période périnatale (gestation et lactation) peut être considérée comme une fenêtre critique d'exposition en termes de facteurs de risque.

Conclusion

En conclusion, l'étude de l'effet des mélanges est une problématique complexe comme le soulignent Soto et Sonnenschein dans une revue récente [16]. Afin d'apporter des éléments de réponse à la question de l'impact des mélanges, il est nécessaire de développer des approches qui permettent d'intégrer divers paramètres («*doses of widely structurally different chemicals acting at different ages on different target tissues having different susceptibilities to those diverse compounds*» [16] et d'associer plusieurs approches comme la modélisation mathématique, les simulations et les approches expérimentales.

La complexité de l'étude des mélanges s'accroît d'un degré supplémentaire lorsque l'on considère que l'alimentation apporte aussi des facteurs bénéfiques pour la santé et à potentiel protecteur vis-à-vis d'une exposition aux pesticides. La question reste alors posée de l'interaction de ces composés avec les facteurs de risque et de savoir le poids de chacun dans la balance bénéfice/risque de l'alimentation.

Conflit d'intérêt

L'auteur déclare ne pas avoir de conflits d'intérêt.

Remerciements

Agence nationale de la recherche (ANR) et Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail (Anses).

Références

- [1] Efsa. 2008 annual report on pesticides residues according to article 32 of regulation (EC) no. 396/2005. European food safety authority (EFSA), Parma, Italy. 2010.
- [2] Merhi M, Raynal H, Cahuzac E, Vinson F, Cravedi JP, Gamet-Payastre L. Occupational exposure to pesticides and risk of hematopoietic cancers: meta-analysis of case-control studies. *Cancer Causes Control* 2007;18:1209–26.
- [3] Lafiura KM, Bielawski DM, Posecion Jr NC, et al. Association between prenatal pesticide exposures and the generation of leukemia-associated T(8;21). *Pediatr Blood Cancer* 2007;49:624–8.
- [4] Eskenazi B, Marks AR, Bradman A, et al. Organophosphate pesticide exposure and neurodevelopment in young Mexican-American children. *Environ Health Perspect* 2007;115:792–8.
- [5] Abhishek S, Kaur N, Kaur S, Lata M, Sharma JK, Sharma A. Association of GSTM1 and GSTT1 gene deletions with susceptibility to DNA damage in the pesticide-exposed workers of Punjab. *Rejuvenation Res* 2010;13:281–4.
- [6] Ritz BR, Manthripragada AD, Costello S, et al. Dopamine transporter genetic variants and pesticides in Parkinson's disease. *Environ Health Perspect* 2009;117:964–9.
- [7] Kortenkamp A. Low dose mixture effects of endocrine disruptors: implications for risk assessment and epidemiology. *Int J Androl* 2008;31:233–40.
- [8] Rider CV, Furr JR, Wilson VS, Gray LE, Jr. Cumulative effects of in utero administration of mixtures of reproductive toxicants that disrupt common target tissues via diverse mechanisms of toxicity. *Int J Androl* 2010;33:443–62.
- [9] Perez-Carreón JI, Dargent C, Merhi M, et al. Tumor promoting and co-carcinogenic effects in medium-term rat hepatocarcinogenesis are not modified by co-administration of 12 pesticides in mixture at acceptable daily intake. *Food Chem Toxicol* 2009;47:540–6.
- [10] Valeron PF, Pestano JJ, Luzardo OP, Zumbado ML, Almeida M, Boada LD. Differential effects exerted on human mammary epithelial cells by environmentally relevant organochlorine pesticides either individually or in combination. *Chem Biol Interact* 2009;180:485–91.
- [11] Perobelli JE, Martinez MF, da Silva Franchi CA, Fernandez CD, de Camargo JL, Kempinas W. de G. Decreased sperm motility in rats orally exposed to single or mixed pesticides. *J Toxicol Environ Health A* 2010;73:991–1002.
- [12] Christiansen S, Scholze M, Dalgaard M, et al. Synergistic disruption of external male sex organ development by a mixture of four antiandrogens. *Environ Health Perspect* 2009;117:1839–46.
- [13] Blystone CR, Lambright CS, Cardon MC, et al. Cumulative and antagonistic effects of a mixture of the antiandrogens vinclozolin and iprodione in the pubertal male rat. *Toxicol Sci* 2009;111:179–88.
- [14] Padhi BK, Pelletier G, Williams A, et al. Gene expression profiling in rat cerebellum following in utero and lactational exposure to mixtures of methylmercury, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides. *Toxicol Lett* 2008;176:93–103.
- [15] Merhi M, Demur C, Racaud-Sultan C, et al. Gender-linked haematopoietic and metabolic disturbances induced by a pesticide mixture administered at low dose to mice. *Toxicology* 2010;267:80–90.
- [16] Soto AM, Sonnenschein C. Environmental causes of cancer: endocrine disruptors as carcinogens. *Nat Rev Endocrinol* 6:363–70.